

УДК 663.15

Маг. Т.С. Гашкова
Рук. Ю.Л. Юрьев
УГЛТУ, Екатеринбург

ЦЕЛИ И МЕТОДЫ ИММОБИЛИЗАЦИИ ФЕРМЕНТОВ

В современной биотехнологии одно из видных мест принадлежит ферментам. Ферменты и ферментные системы широко используются в различных отраслях промышленности, медицине, сельском хозяйстве, химическом анализе и др.

Название «фермент» произошло от латинского слова *fermentum* - закваска. Все ферменты являются белками - линейными полимерами, собранными из аминокислот. В состав многих ферментов также могут входить простые или разветвленные цепочки различных моносахаров.

По своей природе ферменты являются биологическими катализаторами (ускорителями) химических (биохимических) реакций, которые протекают внутри клеток.

Молекулы фермента могут включаться в какую-либо изолированную фазу, которая отделена от фазы свободного раствора, но способна обмениваться с находящимися в ней молекулами субстрата, эффектора или ингибитора. Это так называемая иммобилизация ферментов.

Сущность иммобилизации ферментов – прикрепление их в активной форме к нерастворимой основе или заключение в полупроницаемую мембранную систему.

Начало этому методу было положено в 1916 г., когда Дж. Нельсон и Е. Гриффин адсорбировали на угле инвертазу и показали, что она сохраняет в таком виде каталитическую активность. Сам термин «иммобилизованные ферменты» узаконен в 1971 г. и означает любое ограничение свободы передвижения белковых молекул в пространстве.

Целью иммобилизации ферментов является возможность:

- многократно использовать ферментативный препарат;
- получать чистые продукты реакции, так как иммобилизованные ферменты легко отделимы от реакционной среды;
- получать достаточно долговечные ферменты, так как они обладают высокой стабильностью, в несколько тысяч раз превышающей стабильность свободных ферментов;
- либо вести процесс непрерывно, регулировать его скорость и соответственно выход продукта, либо в любой момент остановить реакцию, так как иммобилизованные ферменты технологичны;

– целенаправленно изменять некоторые свойства ферментов (специфичность, рН- и температурозависимость, стабильность) для оптимизации процесса с помощью подбора носителей и методов иммобилизации.

Существуют два принципиально различных метода иммобилизации ферментов: без возникновения ковалентных связей между ферментом и носителем (физические методы иммобилизации) и с образованием ковалентной связи между ними (химические методы иммобилизации).

Прикрепление фермента к носителю осуществляется адсорбционно, химической связью или путем механического включения фермента в органический или неорганический гель (в капсулу и т. п.). При этом допускается прикрепление фермента только за счет функциональных групп, не входящих в активный центр фермента и не участвующих в образовании фермент-субстратного комплекса. Носитель фермента, или матрица, может иметь вид зернистого материала, волокнистой структуры, пластинчатой поверхности, пленок или тканей, полых волокон, трубочек, капсул и др. Имеет значение размер частиц носителя. Важно иметь большую поверхность, поэтому рекомендуются небольшие частицы диаметром 0,1–0,2 мм. Носителем фермента может быть как природное вещество, так и синтетический полимер.

При иммобилизации ферментов посредством ковалентного сшивания с носителем происходит образование прочных химических связей между ферментом и носителем, что делает невозможным растворение фермента в реакционной среде. Методы сшивания в общем можно разделить на два основных класса:

- активация носителя добавлением реакционной функции к полимеру;
- модификация скелета полимера для получения активированной группы.

Процессы активации проектируются с целью создания электрофильных групп на носителе, которые на этапе сшивания реагируют с сильными нуклеофильными группами на поверхности белков. Наиболее часто используемые реакции затрагивают следующие боковые цепи аминокислот: лизин (ϵ -аминогруппа), цистеин (тиольная группа), аспарагиновая и глутаминовая кислоты (карбоксильные группы).

Метод иммобилизации путём включения основан на фиксации фермента внутри полимерной сети, которая удерживает фермент, а также позволяет субстрату и продуктам катализа проходить сквозь неё. В отличие от ковалентного метода при иммобилизации включением фермент не связывается с носителем или мембраной. Существуют разные методы включения ферментов, например включение в гель или волокна, а также микроинкапсулирование. Практическое использование этих методов ограничивает пределы переноса масс сквозь мембраны или гели.